植物分类学报 44 (5): 494–502(2006) doi:10.1360/aps050088
Acta Phytotaxonomica Sinica http://www.plantsystematics.com

用叶绿体*rbc*L和*rps4-trn*S区序列确定亚洲特有单型属——篦齿蕨属的系统位置

[1]陆树刚 [2]李春香
[1](云南大学生态学与地植物学研究所 昆明 650091)
[2](中国科学院南京地质古生物研究所现代古生物学和地层学国家重点实验室 南京 210008)

Phylogenetic position of the monotypic genus *Metapolypodium* Ching endemic to Asia: evidence from chloroplast DNA sequences of *rbc*L gene and *rps4-trn*S region

[1]LU Shu-Gang [2]LI Chun-Xiang
[1](*Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University*, Kunming 650091, China)
[2] (*State Key Laboratory of Palaeobiology and Stratigraphy of Nanjing Institute of Geology and Palaeontology, the Chinese Academy of Sciences*, Nanjing 210008, China)

Abstract *Metapolypodium* Ching, a monotypic genus endemic to Asia mainland (SW China and its neighboring regions), is still in dispute as to its systematic position. In this paper, the phylogenetic relationships of this genus was examined based on the chloroplast DNA sequences of *rbc*L gene and *rps4-trn*S region. The *rbc*L genes and *rps4-trn*S region of *M. manmeiense* (Christ) Ching and its closely related species were sequenced. The combined relative sequences downloaded from the GenBank, consisting of three data sets—*rbc*L genes, *rps4-trn*S region including *rps4* and *rps4-trn*S intergenetic spacer, and the combined matrix—were used to assess relationships among them with the neighbor-joining (NJ), maximum-parsimony (MP) and Bayesian inference (BI) analyses. The phylogenetic trees based on individual sequence data and the combined data are topologically similar and reveal that *M. manmeiense* forms a clade with the members of *Polypodiodes* and *Polypodiastrum*, which is not related to any member of *Polypodium*. The trees also strongly support the close relationship between *M. manmeiense* and *Polypodiodes microrhizoma* (C. B. Clarke ex Baker) Ching. We should agree with Ching's opinion, recognizing *Polypodium* L. emend. Ching, *Metapolypodium* Ching, *Polypodiodes* Ching, *Polypodiastrum* Ching and *Schellolepis* J. Sm. as independent taxa according to the results of the present study. It is reasonable to transfer *Polypodiodes microrhizoma* to *Metapolypodium*.

Key words *Metapolypodium manmeiense*, *rbc*L, *rps4-trn*S, phylogeny, Polypodiaceae subfam. Polypodioideae.

摘要 篦齿蕨属*Metapolypodium* Ching是亚洲大陆特有植物，仅含篦齿蕨*Metapolypodium manmeiense* (Christ) Ching 1种，分布于中国西南及其邻近地区，其系统位置一直是一个有待解决的问题。本文用叶绿体*rbc*L和*rps4-trnS*区序列探讨篦齿蕨属的系统位置。我们对篦齿蕨及其近缘类群的叶绿体*rbc*L和*rps4-trn*S区进行PCR扩增和序列测定。用最大简约法、邻接法和贝叶斯推断法对自测序列结合由GenBank下载的*rbc*L和*rps4-trn*S区序列进行独立和联合的系统发育分析，所构建的系统发生树的拓扑

2005-06-07 收稿, 2005-10-08 收修改稿。
基金项目：国家重点基础研究发展计划(2003CB415103)；国家自然科学基金项目(30370116, 40302003) (Supported by the National Key Project for Basic Research on Ecosystem Changes in Longitudinal Range-Gorge Region and Transboundary Eco-security of Southwest China, Grant No. 2003CB415103, and the National Natural Science Foundation of China, Grant No. 30370116 and 40302003)。

结构基本一致。结果显示: 篦齿蕨属与多足蕨属*Polypodium* L. emend. Ching的关系较疏远, 而与水龙骨属*Polypodiodes* Ching和拟水龙骨属*Polypodiastrum* Ching的成员聚成一个支系, 与栗柄水龙骨*Polypodiodes microrhizoma* (C. B. Clarke ex Baker) Ching的关系最近。根据本文的研究结果, 我们赞成秦仁昌1978年的分类系统, 即分别承认多足蕨属、篦齿蕨属、水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属*Schellolepis* J. Sm.为独立的类群。根据分子系统学证据, 宜将栗柄水龙骨转移到篦齿蕨属中。

关键词　篦齿蕨; *rbc*L; *rps4-trn*S; 系统发育; 水龙骨亚科

篦齿蕨属*Metapolypodium* Ching是秦仁昌(1978)从“ *Polypodium* ”中独立出来的属, 只包括篦齿蕨*M. manmeiense* (Christ) Ching一种(*M. kingpingense* Ching & W. M. Chu ex Ching为该种分类上的异名), 分布于亚洲大陆南部热带、亚热带山地(中国云南、贵州、四川, 越南, 老挝, 柬埔寨, 缅甸, 泰国, 印度东北部和锡金)(林尤兴, 2000)。篦齿蕨属植物的系统位置是一个有待解决的问题。尽管秦仁昌(1978)认为该属与多足蕨属*Polypodium* L.最相近, 均具分离的叶脉, 但两者在植物形态和地理分布上存在差别, 因此被独立为不同的属。篦齿蕨属与多足蕨属、水龙骨属*Polypodiodes* Ching、拟水龙骨属*Polypodiastrum* Ching和棱脉蕨属*Schellolepis* J. Sm.(该属过去认为是*Goniophlebium* Presl的异名, 现认为*Schellolepis* J. Sm.是产亚洲的属, 而*Goniophlebium*是产美洲的属(吴兆洪, 秦仁昌, 1991))共同组成水龙骨科水龙骨亚科Polypodiaceae subfam. Polypodioideae (秦仁昌, 1978; 吴兆洪, 秦仁昌, 1991; 林尤兴, 2000)。篦齿蕨属自成立至今, 其在水龙骨科水龙骨亚科中的系统位置一直有待做进一步探讨。

近年来的分子系统学研究, 特别是运用叶绿体基因组中编码磷酸核酮糖羧化酶大亚基(*rbc*L)的基因序列构建的系统树, 已经为蕨类植物的系统演化关系提供了很好的证据(Hasebe et al., 1994, 1995; Pryer et al., 2001a, b; Little & Barrington, 2003), 尤其是Schneider等(2004a)用叶绿体的3段DNA序列(*rbc*L、*rps4*基因和*rps4-trn*S间隔区)研究水龙骨科和禾叶蕨科Grammitidaceae的系统关系, 为我们探讨篦齿蕨属的系统位置提供了背景资料。Schneider等的研究已涉及秦仁昌系统(1978)水龙骨亚科中多足蕨属、水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属, 但未涉及篦齿蕨属。其研究结果显示水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属组成单系群, 而石韦属*Pyrrosia* Mirbel和鹿角蕨属*Platycerium* Desv.是其姊妹群。为了探讨篦齿蕨的系统位置。我们以Schneider等(2004a)的研究为基础, 采集篦齿蕨及其近缘植物种类, 对其叶绿体的两段DNA序列*rbc*L和*rps4-trn*S区(包括*rps4*基因和*rps4-trn*S基因间隔区)进行分析, 以探讨篦齿蕨属的系统位置。

1　材料和方法

1.1　实验材料

考虑到篦齿蕨属与多足蕨属在形态上最相近, 同时又考虑到在秦仁昌系统(1978)中, 篦齿蕨属与多足蕨属、水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属共同组成水龙骨科水龙骨亚科, 因此我们主要探讨水龙骨科水龙骨亚科代表植物的系统关系, 以分析篦齿蕨的系统位置。根据Schneider等(2004a)的研究, 石韦属和鹿角蕨属是这一类群的姊妹群, 我们还采集了石韦属的代表, 结合已有的鹿角蕨属植物作为外类群。供试材料为新鲜叶片, 样品采

集后迅速在硅胶中干燥，回到实验室进行DNA提取及序列分析。凭证标本保存在云南大学蕨类植物标本室(PYU)，以备查验。样品产地等信息详见表1。其他由基因库中下载以用于本文系统发育分析的相关序列见表2。

表**1**　实验材料及其相关信息
Table 1　Samples used in sequence analysis and their information

分类群1) Taxon1)	采样地点 Locality	标本号 Voucher/No.	基因库序列号 GenBank Accession No.	
			*rbc*L	*rps4*+ *rps4-trn*S
篦齿蕨 *Metapolypodium manmeiense* (Christ) Ching	云南丽江 Lijiang, Yunnan	Lu SG/K4 (PYU)	DQ078628	DQ078631
蒙自拟水龙骨 *Polypodiastrum mengtzeense* (Christ) Ching	云南丽江 Lijiang, Yunnan	Lu SG/K9 (PYU)	DQ078624	DQ078633
光茎水龙骨 *Polypodiodes wattii* (Bedd.) Ching	云南昆明金殿公园 Jingdian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/D6 (PYU)	DQ078625	DQ078636
栗柄水龙骨 *Polypodiodes microrhizoma* (Clarke ex Baker) Ching	云南丽江 Lijiang, Yunnan	Lu SG/K8 (PYU)	DQ078627	DQ078632
友水龙骨 *Polypodiodes amoena* (Wall. ex Mett.) Ching	云南昆明金殿公园 Jingdian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/B7 (PYU)	DQ078626	–
假友水龙骨 *Polypodiodes subamoena* (Clarke) Ching	湖北神农架 Shennongjia, Hubei	Lu SG/Z21 (PYU)	DQ078629	–
中华水龙骨 *Polypodiodes chinensis* (Christ) S. G. Lu	重庆南川金佛山 Mt. Jinfoshan, Nanchuan, Chongqing	Lu SG/X14 (PYU)	DQ078630	DQ078637
裸叶石韦 *Pyrrosia nuda* (Gies.) Ching	云南景谷 Jinggu, Yunnan	Lu SG/C26 (PYU)	DQ078623	DQ078634
绒毛石韦 *Pyrrosia subfurfuracea* (Hook.) Ching	云南昆明金殿公园 Jingdian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/B6 (PYU)	DQ078622	DQ078635

1)物种的名称根据《中国植物志》(林尤兴, 2000)。
1) Classification follows the *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (Lin, 2000).

1.2　总DNA提取

总DNA提取采用CTAB方法(Hillis et al., 1996)，并根据施苏华等(1996)的方法略作修改。

1.2.1　引物的设计　考虑到在进行系统进化研究时，单个基因序列所能提供的信息往往有限，因此我们同时考虑了叶绿体的两段DNA序列：*rbc*L和*rps4-trn*S区(包括*rps4*基因和*rps4-trn*S基因间隔区)。扩增*rbc*L基因所用引物根据Little和Barrington(2003)设计，略作修改，具体序列见Li等(2004)。*rps4-trn*S区参照Hennequin等(2003)设计，略作修改，分别为rps5: 5′ ATGTCCCGTTATCGAGGACC 3′; trnS: 5′ TACCGAGGGTTCGAATC 3′。

1.2.2　**PCR**扩增　扩增反应在Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9600上进行。反应体积为50 μL，其成分为：2 μL DNA模板(约2 ng，由Gel Doc图像分析仪测得)，2.5 mmol/L $MgCl_2$, 0.2 mmol/L dNTPs, 1×buffer, 0.25 μmol/L引物, 0.8 U *Taq* DNA聚合酶(Sangon公司), 1 μg/μL BSA, 5% DMSO。扩增*rbc*L基因程序为: 94 ℃, 2 min预变性。循环温度94 ℃, 0.5 min; 42 ℃ 1 min; 72 ℃, 1min; 40次重复。最后72 ℃延伸7 min。扩增*rps4*+*rps4-trn*S

表2　由基因库中下载用于本文系统发育分析的DNA序列

Table 2　GenBank Accession numbers of downloaded DNA sequences in this study

分类群 Taxon	基因库序列号 GenBank Accession No.	
	*rbc*L	*rps4* + *rps4-trn*S
友水龙骨*Polypodiodes amoena* (Wall. ex Mett.) Ching	–	AY362625
台湾水龙骨 *Polypodiodes formosana* (Baker) Ching	AB043100	AY096224
日本水龙骨 *Polypodiodes niponica* (Mett.) Ching	AB043098	AY362626
棱脉蕨 *Schellolepis persicifolia* (Desv.) Pich. Serm.	AB043099	AY362628
Goniophlebium percussum (Cav.) Wagner & Grether	–	AY362628
Goniophlebium subauriculatum (Blume) C. Presl	AF470342	–
二歧鹿角蕨 *Platycerium bifurcatum* (Cav.) C. Chr.	AF470341	–
Platycerium elephantotis Schweinf.	–	AY096222
Polypodium adelphum Maxon.	AY362587	AY362660
Polypodium adnatum Kze.	AY362593	AY362666
Polypodium arcanum Maxon.	AY362586	AY362659
Polypodium chrysolepis Hook.	AY362594	AY362667
Polypodium dulce Poir.	–	AY362668
Polypodium ensiforme Thunb.	AY362598	AY362671
Polypodium fraxinifolium Jacq.	AY096207	AY096235
Polypodium funckii Mett.	AY362603	AY362675
Polypodium furfuraceum Schlecht. & Cham.	AY362610	AY362683
Polypodium guttatum Maxon.	AY362606	AY362678
Polypodium hartwegianum Hook.	AY362596	AY362669
Polypodium levigatum Cav.	AY362600	AY362672
Polypodium longipinnulatum Fourn.	AY362605	AY362677
Polypodium monosorum Desv.	AY362604	AY362676
Polypodium myriolepis Christ	AY362607	AY362679
Polypodium pellucidum Klf.	U21149	–
Polypodium ptilorhizon Christ	AY362611	AY362684
Polypodium rhodopleuron Kze.	U21145	AY362682
Polypodium rosei Maxon	AY362608	AY362680
Polypodium triseriale Sw.	AY362609	AY362681
欧亚多足蕨 *Polypodium vulgare* L.	AB044899	X84137
Polypodium wiesbaueri Sod.	AY362601	AY362673

片段的程序为: 94 ℃, 2min预变性。循环温度94 ℃, 0.5 min; 56 ℃, 1 min; 72 ℃, 1 min; 40次重复。最后72 ℃延伸7 min。扩增产物经0.8%–1.2%琼脂糖电泳后用Gel Doc图像分析仪观察。

1.2.3　序列测定　序列测定在ABI 377 DNA自动测序仪(Applied Biosystems, USA)上完成, 从3′→5′和5′→3′进行测序。序列数据已输入美国生物信息中心(NCBI)的基因库(GenBank)中, 序号见表1。

1.3　序列分析

用CLUSTAL X软件(Thompson et al., 1997)进行对位排列。对位排列后的序列, 分别

用MEGA2(Kumar et al., 2001)软件中的最大简约法(maximum parsimony, MP)和邻接法(neighbor-joining, NJ)及MrBayes V3.0b4(Huelsenbeck & Ronquist, 2001)中的贝叶斯推断法构建系统树。在简约法中采用branch-and-bound方法，邻接法分析中的遗传距离采用Kumar’s two-parameter算法，转换/颠换值设为1.6，采用所有的核苷酸等权，将空位(gap)作为缺失(missing)状态处理。在用贝叶斯方法构建系统树之前，先用MrModeltest 2.0 (Nylander, 2004)软件获得最适合本研究序列矩阵的核苷酸替代模型及相关参数，此模型为GTR+G模型(Yang, 1994)。贝叶斯法分析中采用MCMCMC(Metropolis-coupled Markov Chain Monte Carlo)算法，以随机树为起始树，运行1000000代，每100代取样1次，开始的1000个样本作为老化样本(burn-in samples)舍弃。采用分划同质性检验(partition homogeneity test)(Farris et al., 1995)评价序列联合分析的可靠性。

2 结果和分析

2.1 *rbc*L、*rps4*+*rps4*-*trn*S序列分析结果

新测定的9种植物的叶绿体*rbc*L基因和8种植物的*rps4*+*rps4*-*trn*S序列的GenBank收录号见表1。在对位排列矩阵中(包括从GenBank中下载的相关序列)，*rbc*L序列长度为1377 bp，无插入或缺失，其中可变位点411个(占序列长度的29.85%)，信息位点为178个(占序列长度的12.93%)。*rps4*+*rps4*-*trn*S序列长度为1278 bp。其中可变位点525个(占序列长度的41.08%)，信息位点为312个(占序列长度的25.83%)。

用两种常用的系统发生分析方法(MP和NJ)分别构建的*rbc*L和*rps4*+*rps4*-*trn*S系统树在拓扑结构上基本一致，仅在自展支持率上存在差异(图1)。结果显示篦齿蕨与水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属聚成一个自展支持率较高的支系(MP和NJ分析方法的抽样自展值均达到90%以上)(图1)。多足蕨属是多系发生的，这与Schneider等(2004a)的研究结果一致。篦齿蕨与栗柄水龙骨关系最近，两者组成的分支是其他的水龙骨属成员(友水龙骨、台湾水龙骨和日本水龙骨)与蒙自拟水龙骨组成的分支的姊妹群。棱脉蕨和*Goniophlebium percussum*具有较近的亲缘关系，两者聚成自展支持率较高的分支，较早分化出来。多足蕨属分为多个分支，篦齿蕨不与多足蕨属的任何一个分支聚在一起。

2.2 序列联合分析的结果

由于多足蕨属与篦齿蕨属所组成的支系关系比较疏远，并参照Schneider等(2004a)的研究，因此对*rbc*L基因和*rps4*+*rps4*-*trn*S两套数据进行联合分析时，不考虑多足蕨属的成员。对*rbc*L基因和*rps4*+*rps4*-*trn*S分划同质性检验的结果为P=1.00,说明可以将两套数据进行联合分析。用MP法和贝叶斯推断法对*rbc*L和*rps4*+*rps4*-*trn*S进行联合的系统发育分析。

*rbc*L基因和*rps4*+*rps4*-*trn*S区序列联合对位排列后的序列长度为2476 bp，其中可变位点528个(占序列长度的21.32%)，信息位点为194个(占序列长度的7.84%)。用MP法和贝叶斯推断法分别构建的系统树在拓扑结构上基本一致，但在自展支持率上存在差异(图1)。与*rbc*L基因和*rps4*+*rps4*-*trn*S区序列独立分析的结果相似，篦齿蕨与栗柄水龙骨关系最近，两者组成的分支是其他的水龙骨属成员(友水龙骨、台湾水龙骨和日本水龙骨)和蒙自拟水龙骨组成的分支的姊妹群。棱脉蕨和*Goniophlebium percussum*具有较近的亲缘关

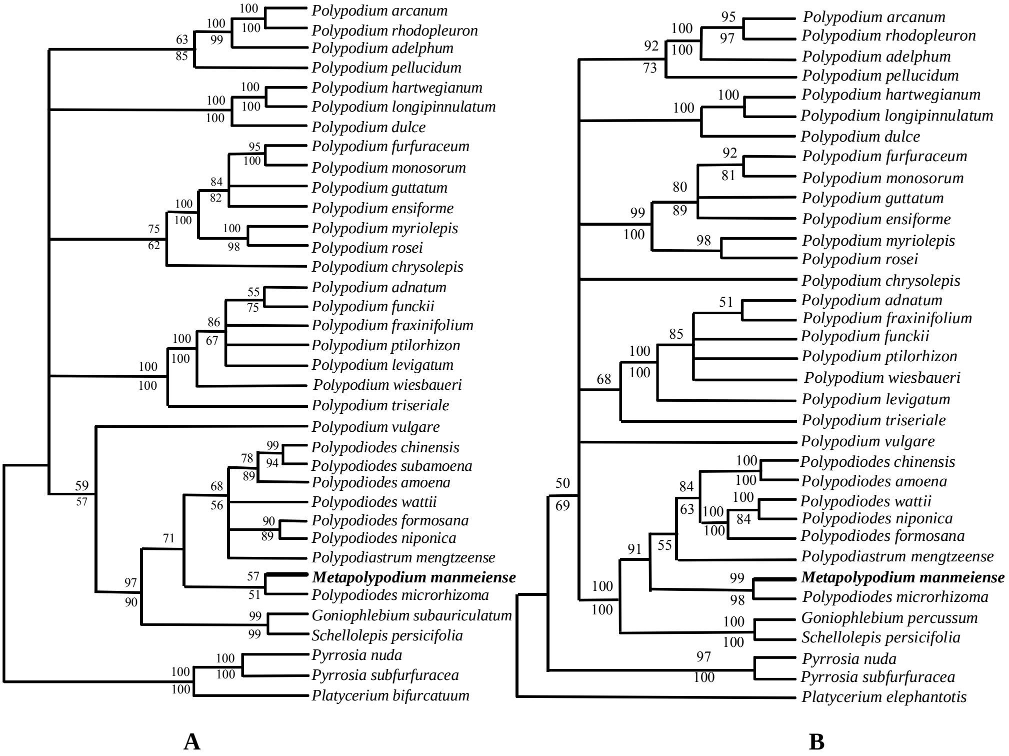

图**1**　采用MEGA2分析软件构建的水龙骨亚科植物最简约严格一致树　**A.** *rbc*L系统树(500次重复抽样分析的自展值：分支上方为简约法抽样自展值，分支下方为邻接法抽样自展值)。**B.** *rps4+rps4-trn*S系统树(500次重复抽样分析的自展值：分支上方为邻接法抽样自展值，分支下方为简约法抽样自展值)。

Fig. 1.　The strict consensus tree constructed with MEGA2 software for Polypodiaceae subfam. Polypodioideae.　**A,** Tree based on *rbc*L sequence (Bootstrap values of 500 maximum parsimony analysis replicates are shown above branches, bootstrap values of neighbor-joining analysis are shown below branches). **B,** Tree based on *rps4+rps4-trn*S sequence (Bootstrap values of 500 maximum parsimony analysis replicates are shown below branches, bootstrap values of neighbor-joining analysis are shown above branches).

系，两者聚成自展支持率较高的分支，较早分化出来。

3　讨论

3.1　篦齿蕨的系统位置

从外部形态特征看，篦齿蕨属与多足蕨属有着比较密切的亲缘关系，两者均具单叶，羽状深裂，叶脉分离。但其地理分布区存在明显差异，多足蕨属在中国仅有2种，欧亚多足蕨*Polypodium vulgare* L.分布于新疆，东北多足蕨*P. virginianum* L.分布于东北至华北，这两种蕨类植物的主要分布区在北温带地区(欧洲、亚洲温带和北美洲)，而篦齿蕨属分布于亚洲大陆南部热带、亚热带山地，两属分别属于不同的植物区系成分，多足蕨属属于泛北极植物区(Holarctic Kingdom)的区系成分，篦齿蕨属属于东亚植物区(East Asiatic Kingdom)和古热带植物区(Palaeotropic Kingdom)的区系成分。本文的系统发育分析结果

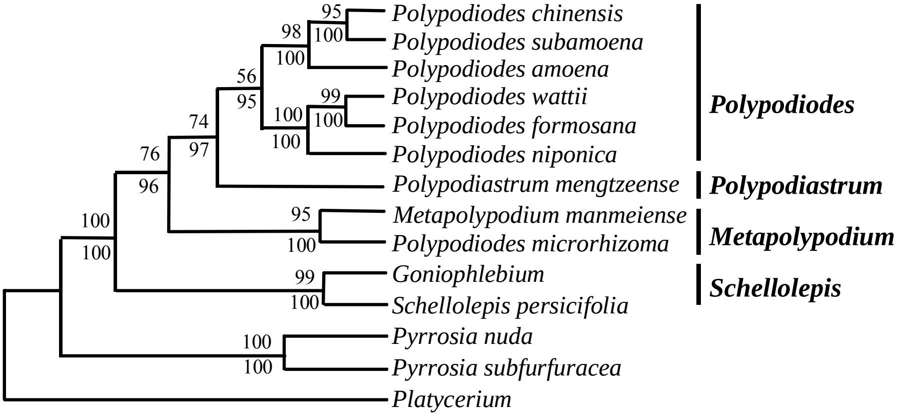

图**2**　基于*rbc*L和*rps4+rps4-trn*S序列，用MEGA2和MrBayes V3.0b4分析软件构建的水龙骨亚科植物系统发育树(各分支上方的数值为最大简约抽样自展值，500次重复抽样分析；分支下方为贝叶斯推断法的后验概率值)，*Goniophlebium*和*Platycerium*的序列来自同属相近的不同种：*Goniophlebium*=*G*. *subauriculatum*的*rbc*L序列+*G*. *percussum*的*rps4+rps4-trn*S序列；*Platycerium*=*P*. *bifurcatum*的*rbc*L序列+*P*. *elephantotis*的*rps4+rps4-trn*S序列。

Fig. 2. The phylogenetic tree constructed based on *rbc*L and *rps4+rps4-trn*S sequences of Polypodiaceae subfam. Polypodioideae with MEGA2 and MrBayes V3.0b4 softwares. Bootstrap values of 500 maximum parsimony analysis replicates are shown above branches, values of the posterior probability values of Bayesian inference (BI) analysis are shown below branches. *Goniophlebium* and *Platycerium* are based on sequences of two different but closely species of the genus: *Goniophlebium*=*rbc*L of *G*. *subauriculatum*+*rps4+rps4-trn*S of *G*. *percussum*; *Platycerium*=*rbc*L of *P*. *bifurcatum*+*rps4+rps4-trn*S of *P*. *elephantotis*.

表明，篦齿蕨属与多足蕨属两个属之间的亲缘关系较疏远，与地理分布相吻合。从图1和图2均可以看出，篦齿蕨属近于热带亚洲的棱脉蕨属，即篦齿蕨属为热带亚洲起源的属。至于热带亚洲起源的各属与北温带起源的多足蕨属的演化关系则需另文讨论。虽然演化关系有先后，但从图1和图2还可以看出，秦仁昌1978年系统中水龙骨亚科的5个属：多足蕨属、篦齿蕨属、水骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属分别是5个独立的分类群，篦齿蕨属、水龙骨属和拟水龙骨属是能成立的属。

从图1和图2中可以看出，栗柄水龙骨与篦齿蕨聚成一支，这并非显示篦齿蕨属与水龙骨属之间的界线不清，而显示栗柄水龙骨更可能是篦齿蕨属的成员。栗柄水龙骨除具网状叶脉外，植株形态及生态习性等均与篦齿蕨属的特征一致。栗柄水龙骨的分类地位需要进一步探讨，从分子证据看，栗柄水龙骨组合到篦齿蕨属之下更合理。

至于篦齿蕨属与热带亚洲特有属*Thylacopteris* Kunze ex J. Sm.(马来西亚特有，含2种，*T. diaphana* (Brause) Copel.和*T. papillosa* Kunze ex J. Sm.)的系统关系也有待进一步研究，两属的形态相似，如均为根状茎横走，叶羽状深裂，叶脉分离等，但篦齿蕨属的孢子囊群在叶的近轴面不形成乳突，而*Thylacopteris*属的孢子囊群在叶的近轴面形成乳突(Hovenkamp, 1998)。已有的分子系统学研究结果(Schneider et al., 2004b)显示，*Thylacopteris*属位于*Goniophlebium* Clade、Lepisoroid Clade、Microsoroid Clade和Lecanopteroid Clade的基部，单独为一支系；结合本文的*rbc*L和*rps4+rps4-trn*S序列分析的结果，我们认为*Thylacopteris*属与篦齿蕨属的关系比较疏远，位于秦仁昌系统中水龙骨亚科的基部(本文未列出系统树)；另外，对整个中国水龙骨科的系统发育分析也显示，*Thylacopteris*属的位

置比较孤立，单独为一支系(*rbc*L序列，李春香，陆树刚，另文发表)。

3.2　水龙骨亚科植物的系统关系

水龙骨亚科植物是蕨类植物分类和地理亲缘研究中的一个关键类群，其地理联系广泛(秦仁昌, 1979)。最近Schneider等(2004a)的研究表明水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属组成单系群，与多足蕨属的关系比较疏远，因此Schneider等建议三者应归入*Goniophlebium*属。根据本文的研究，除了多足蕨属，中国水龙骨亚科植物的另外4属：即篦齿蕨属、水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属组成支持率很高的单系群，对于它们的分类，我们不赞成Schneider等(2004a)承认一个广义的*Goniophlebium*属的建议。我们赞成秦仁昌(1978)的分类系统，即分别承认多足蕨属、篦齿蕨属、水龙骨属、拟水龙骨属和棱脉蕨属。但如将栗柄水龙骨组合到篦齿蕨属之下，则水龙骨亚科属间的分类界线需重新界定。篦齿蕨也曾组合到*Goniophlebium*之下(*G. manmeiense* (Christ) Rodl-Linder)。本文所涉及的中国水龙骨科水龙骨亚科植物的种类还很有限，水龙骨亚科植物的属间演化关系及属间界线需进一步深入研究。

致谢　李建伟博士(Dr. Jianwei (Jerry) Li, Institute for Genomic Research at Rockville, Maryland, USA)修改英文摘要；中山大学施苏华教授、黄椰林和周仁超博士提供诸多技术上的支持和建议，谨表谢忱。

参考文献

Ching R-C (秦仁昌). 1978. The Chinese fern families and genera: systematic arrangement and historical origin. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 16 (3): 1–19; (4): 16–37.

Ching R-C (秦仁昌). 1979. The Himalaya as a center of concentration for the south-eastern Asiatic polypodiaceous ferns. Acta Botanica Yunnanica (云南植物研究) 1 (1): 23–31.

Farris J S, Kallersjo M, Kluge A G, Bult C. 1995. Testing significance of incongruence. Cladistics 10: 315–319.

Hasebe M, Omori T, Nakazawa M, Sano T, Kato M, Iwatsuki K. 1994. *rbc*L gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 91: 5730–5734.

Hasebe M, Wolf P G, Pryer K M, Ueda K, Ito M, Sano R, Gastony G J, Yokoyama J, Manhart J R, Murakami N, Crane E H, Haufler C H, Hauk W D. 1995. Fern phylogeny based on *rbc*L nucleotide sequences. American Fern Journal 85: 134–181.

Hennequin S, Ebihara A, Ito M, Iwatsuki K, Dubuisson J Y. 2003. Molecular systematics of the fern genus *Hymenophyllum* s.l. (Hymenophyllaceae) based on chloroplastic coding and noncoding regions. Molecular Phylogenetics and Evolution 27: 283–301.

Hillis D M, Mable K, Larson A, Davis S K, Zimmer E A. 1996. Sequencing and cloning. In: Hillis D M, Moritz C M, Mable B K eds. Molecular Systematics. Massachusetts: Sinauer Sunderland. 321–384.

Hovenkamp P H. 1998. Flora Malesiana, Series II—Ferns and Fern allies. Leiden: Publication Department Rijksherbarium/Hortus Botanicus. 231–234.

Huelsenbeck J P, Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. Bioinformatics 17: 754–755.

Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, Nei M. 2001. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. Bioinformatics 17: 1244–1245.

Li C-X, Lu S-G, Yang Q. 2004. Asian origin for *Polystichum* (Dryopteridaceae) based on *rbc*L sequences. Chinese Science Bulletin 49: 1146–1150.

Little D P, Barrington D S. 2003. Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). American Journal of Botany 90: 508–514.

Lin Y-X (林尤兴). 2000. Subfam. Polypodioideae Nayar. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物

志). Beijing: Science Press. 6 (2): 7–31.

Nylander J A A. 2004. MrModeltest 2.0. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Sweden.

Pryer K M, Schneider H, Smith A R, Cranfill R, Wolf P G, Hunt J S, Sipes S D. 2001a. Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants. Nature 409: 618–622.

Pryer K M, Smith A R, Hunt J S, Dubuisson J Y. 2001b. *rbc*L data reveal two monophyletic groups of filmy ferns (Filicopsida: Hymenophyllaceae). American Journal of Botany 88: 1118–1130.

Rodl-Linder G. 1990. A monograph of the fern genus *Goniophlebium* (Polypodiaceae). Blumea 34: 277–423.

Schneider H, Smith A R, Cranfill R, Hildebrand T J, Haufler C H, Ranker T A. 2004a. Unraveling the phylogeny of polygrammoid ferns (Polypodiaceae and Grammitidaceae): exploring aspects of the diversification of epiphytic plants. Molecular Phylogenetics and Evolution 31: 1041–1063.

Schneider H, Janssen T, Hovenkamp P, Smith A R, Cranfill R, Haufler C H, Ranker T A. 2004b. Phylogenetic relationships of the enigmatic Malesian fern *Thylacopteris* (Polypodiaceae, Polypodiidae). International Journal of Plant Sciences 165: 1077–1087.

Shi S-H (施苏华), Zhang Q (章群), Chen Y-Q (陈月琴), Tang S-Q (唐绍清), Qu L-H (屈良鹄). 1996. A simple method for isolation of total RNA and DNA from silicagel-dried and fresh leaves of plants. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni (中山大学学报) 35: 103–105.

Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research 25: 4876–4882.

Wu S-H (吴兆洪), Ching R-C (秦仁昌). 1991. Fern families and genera of China. Beijing: Science Press. 485–508.

Yang Z. 1994. Estimating the pattern of nucleotide substitution. Journal of Molecular Evolution 39: 105–111.